

Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten
der Freien Universität Berlin
im Städtischen Rudolf-Virchow-Krankenhaus
Direktor: Professor Dr. med. Günter Stüttgen

DIE BEWERTUNG DER ZITRONENSÄURE-KONZENTRATION
IM MENSCHLICHEN SPERMAPLASMA

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

1971

vorgelegt von

Karl Joachim König

aus Wolfen Kreis Bitterfeld

Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten
der Freien Universität Berlin
im Städtischen Rudolf-Virchow-Krankenhaus

Direktor: Prof. Dr. med. Günter Stüttgen

Die Bewertung der Zitronensäure-Konzentration
im menschlichen Spermaplasma

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Karl Joachim König
aus Wolfen Kreis Bitterfeld

Referent: Prof. Dr. med. Günter Stüttgen

Korreferent: Prof. Dr. med. Klaus Borner



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 6. Dezember 1971

<u>Inhaltsangabe</u>	Seite
Einleitung	3
Methodik	7
Ergebnisse	10
Zitronensäure und Ejakulatvolumen	12
Zitronensäure und pH-Wert des Samens	17
Zitronensäure und Lebensalter	17
Zitronensäure und Spermienmorphologie	19
Zitronensäure und Spermienmotilität	22
Zitronensäure und Wiederverflüssigung	26
Zitronensäure und Fruktose	28
Zusammenfassung	39
Literatur	42

Einleitung

1929 gelang SCHERSTEN erstmalig der Nachweis von Zitrat in hoher Konzentration im menschlichen Sperma und in verschiedenen Geschlechtsdrüsensekreten vom Eber und Kaninchen.

Nach vorangehender präparativer Behandlung der Sekrete gelang ihm mit Hilfe der THUNBERG'schen enzym-chemischen Methode die korrekte Bestimmung der Zitratmengen, wobei es ihm dank der hochgradigen Empfindlichkeit dieser Mikromethode möglich war, selbst aus kleinen Sekretquantitäten ($< 0,1$ g), die aus den Geschlechtsdrüsen erhalten wurden, Zitrat nachzuweisen und quantitativ zu bestimmen.

Der Nachweis des bis dahin in den Geschlechtsdrüsensekreten unbekannten Vorkommens von Zitrat veranlasste SCHERSTEN zur Ausdehnung seiner Untersuchungen, vor allem im Hinblick auf die Bedeutung dieses Stoffes für die Physiologie der Spermien.

1936 legte SCHERSTEN dann seine ausgedehnten Studien über das Vorkommen und die biologische Bedeutung des Zitrats in den Geschlechtsdrüsensekreten des Menschen und verschiedener Tiere (Eber, Stier, Kaninchen, Meer-schweinchen und Ratte) vor. Er fand in den 72 untersuchten menschlichen Ejakulaten im Mittel $5,0 \pm 1,0$ % Zitronensäure und vermerkte eine Variabilität der Zitratmengen zwischen den verschiedenen Individuen, die er auf unterschiedliche prozentuale Beimengungen von Prostatasekret zu den Ejakulaten bezog.

Bei seinen Untersuchungen der Prostata- und Samenblasensekrete an Drüsen von 9 obduzierten Personen konnte SCHERSTÉN als Bildungsstätte der Zitronensäure ganz eindeutig die Prostata ermitteln, im Samenblasensekret konnte er Zitrat nicht mit Sicherheit nachweisen. Er räumte jedoch die Möglichkeit eines Vorkommens in Blutserumkonzentration (ca. 24 γ /ccm) ein.

Darüber hinaus vermutete SCHERSTÉN einen Zusammenhang zwischen der Höhe des Zitratgehaltes und der sexuellen Aktivität.

Bei den tierischen Geschlechtsdrüsensekreten fand SCHERSTÉN hohe Konzentrationen an Zitrat vor allem in den Samenbläschen (Glandulae vesiculares). Beim Eber, Stier und Meerschweinchen stellt die Prostata im Verhältnis zu den übrigen akzessorischen Geschlechtsdrüsen aufgrund ihrer anatomischen Kleinheit auch nur den kleinsten und auch zitratärmsten Anteil zur Ejakulatmenge bereit.

Der reichliche Gehalt des Spermaplasma an Fruktose ⁺), der sich in Gegenwart lebender Spermien unter gleichzei-

⁺) Die für die Bewegungsäusserungen der Spermien notwendige Energie wird in erster Linie durch deren glykolytisches System freigesetzt; dabei ist die Fruktose der wesentliche, wenn auch nicht ausschliessliche (JOËL) Energielieferant. Mit Hilfe wiederholter Bestimmungen des Fruktose-, Brenztraubensäure- und Milchsäuregehaltes im Spermaplasma lässt sich der anaerobe glykolytische Stoffwechsel der Spermien eindrucksvoll studieren (KIMMIG, STEENO, SCHIRREN).

tiger Milchsäurezunahme vermindert, veranlasste SCHERSTÉN zur Klärung der Frage, inwieweit Zitrat von den Spermien utlisiert werden und ein Nahrungsreservoir darstellen könnte. Er fand weder Hinweise für einen Zitratverbrauch durch lebende Spermien noch gelang es ein Zitrat-abbauendes Enzym in den Spermien nachzuweisen. Durch die Fruktose-Utilisation steigt der Milchsäuregehalt des Spermaplasma an. Inwieweit kann nun die spermiotoxische Wirkung der Milchsäure durch ein wirkungsvolles Zitronensäure-Puffersystem abgefangen werden?

Diese Frage ist mehrfach diskutiert worden (KIMMIG) und kann heute dahingehend beantwortet werden, dass dem Zitrat die Rolle eines für die Spermien notwendigen biologischen Puffersystems nicht unterstellt werden kann. Spermatozoen behalten nur kurze Zeit ihre Bewegungsintensität in dem sauren Milieu, welches dieses Zitratpuffersystem aufrechterhält. Die maximale Pufferkapazität des zitratreichen Prostatasekretes liegt bei einem pH von 4,5 bis 5,5. In diesem Bereich stellen die Spermien jedoch ihre Beweglichkeit bald ein (DUBINTSCHIK, METTENLEITER, MUSCHAT, v. LANZ). Der pH-Wert des Prostatasekretes liegt im übrigen bei 6,3 bis 6,5 (HUGGINS) gegenüber 7,2 bis 7,4 im Spermaplasma (HEINKE).

Das Zitrat [†]) kann infolge einer Bildungsfähigkeit von Komplexverbindungen Kalzium im Seminalplasma in Lösung

[†]) Den hohen Zitratgehalt der menschlichen Prostata erklären BARRON und HUGGINS mit dem Unvermögen der menschlichen Prostata, Zitronensäure zu metabolisieren. Die Quelle für die grossen Zitronensäurekonzentrationen im Prostatagewebe ist die bei der Transaminierung von Glutaminsäure in hohem Masse anfallende Oxalessigsäure. Die Hundeprostate ist im Gegensatz dazu in der Lage, sowohl α -Ketoglutarat als auch Zitrat zu verstoffwechseln.

halten und auf diese Weise die Ausfällung von Trikalziumphosphat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) verhindern. Die Vermutung liegt nahe, in Verschiebungen des Verhältnisses Kalzium zu Zitrat eine mögliche Ursache für die Bildung von Prostata-Konkrementen, die nach HAMMERSTEN grösstenteils aus Kalziumphosphat bestehen, zu sehen, zumal wegen der Eiweissarmut des Prostatasekretes die Bindungsmöglichkeiten von Kalzium an Eiweisskörper unbedeutend sein dürften.

1948 gelang es HUMPHREY und MANN, die engen Beziehungen zwischen der Zitronensäurekonzentration des Prostatasekretes und der endokrinen Keimdrüsenaktivität aufzudecken. Sie konnten zeigen, dass nach Kastration die Zitronensäure aus den akzessorischen Geschlechtsdrüsen verschwindet und nach hormoneller Substitution mit Testosteron wieder auf die ursprüngliche Konzentration ansteigt.

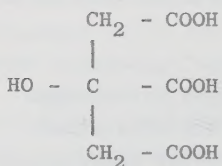
Diese Tatsache veranlasste MANN in Analogie zum "Fruktose-Test" [†]) auch einen "Zitronensäure-Test" zu entwickeln, dessen Empfindlichkeit jedoch nicht die des Fruktose-Tests erreicht, somit als Funktionstest für die andrologische Diagnostik von Störungen der Keimdrüsenfunktion des Mannes wenig geeignet ist (SCHIRREN).

[†]) Der sogenannte Fruktose-Test ist ebenfalls den grundlegenden Untersuchungen MANN's und seinem Arbeitskreis in Cambridge zu verdanken. Er beruht auf der klinischen Beobachtung, dass bei infantilen Tieren keine Fruktose in den akzessorischen Geschlechtsdrüsen gefunden wird; erst mit Eintritt der Geschlechtsreife wird Fruktose nachweisbar, um bei Kastration zu verschwinden und nach Testosteron-Applikation erneut aufzutreten.

Diese ursprünglich (1948) experimentell-veterinärmedizinischen Erkenntnisse gewannen mehr und mehr an Bedeutung für die Humanmedizin, wie von KIMMIG, NOWAKOWSKI und SCHIRREN aufgezeigt und von einer Reihe anderer Autoren bestätigt werden konnte (GROPPER, KIESSLING). In neuerer Zeit prävaliert der Fruktose-Test in der Diagnostik der "postpuberalen Leydigzellinsuffizienz" (SCHIRREN).

Methodik

1. Das Prinzip:



Zitronensäure

Bei Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure wird beim Behandeln mit Kaliumpermanganat Zitronensäure als α -Hydroxysäure unter Abspaltung von Wasser und Kohlenoxyd zu Azetondikarbonsäure oxydiert, welche ihrerseits mit Kaliumbromid in Pentabromazeton übergeführt wird. Das überschüssige KMnO_4 in dem Reaktionsgemisch lässt sich durch Zugabe von Natriumnitrit, überschüssiges NaNO_2 sodann durch Zufügen von Harnstofflösung zerstören.

Durch Ausschütteln mit Petroläther wird Pentabromazeton in die organische Phase gebracht und durch Zusatz von Natriumsulfid-Äthylenglykol-Lösungsgemisch dehalogenisiert, wobei sich das freigesetzte Brom in Äthylenglykol mit intensiv gelber Farbe löst. Die Intensität der gelben Farbe gibt Aufschluss über den Zitronensäuregehalt.

2. Erforderliche Lösungen:

Trichloressigsäure	16 %
Trichloressigsäure	8 %
Schwefelsäure	45 %
Kaliumbromidlösung	12 %
Kaliumpermanganatlösung	5 %
Natriumnitritlösung	10 % (p.A. verwenden, immer frisch ansetzen)

Harnstofflösung 12 %
 Petroläther 60-80°C
 Zitronensäurelösung 0,5 %

Natriumsulfidlösung (5,0 g Na_2S werden in 60,0 ml aqua dest. gelöst und 40,0 ml Äthylenglykol kurz vor Gebrauch zugesetzt. Das Äthylenglykol muss rein sein und es darf beim Zusatz zur Natriumsulfidlösung keine Gelbfärbung auftreten.)

3. Durchführung der Bestimmung:

2,0 ml Trichloressigsäure, 0,1 ml Sperma und 1,9 ml aqua dest. werden in dieser Reihenfolge in ein Zentrifugenglas gegeben und 5 bis 10 Minuten stehen gelassen. (Im Eisschrank ist diese Mischung unbeschränkt haltbar.) Anschliessend werden die Röhrchen 5 Minuten lang bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert.

- a) Testlösung: Zu 2,0 ml überstehender Flüssigkeit werden 1,0 ml 8 %ige Trichloressigsäure und 1,0 ml 45 %ige Schwefelsäure in dieser Reihenfolge gegeben.
- b) Standardlösung: 0,1 ml Standardzitronensäurelösung werden mit 0,9 ml aqua dest. versetzt und nacheinander 1,0 ml 16 %ige Trichloressigsäure, 1,0 ml 8 %ige Trichloressigsäure und 1,0 ml 45 %ige Schwefelsäure zugefügt.
- c) Leerwert: 3,0 ml 8 %ige Trichloressigsäure und 1,0 ml 45 %ige Schwefelsäure. Alle Röhrchen (a, b, c) werden nun wie folgt verarbeitet.

In jedes Röhrchen werden 0,2 ml Kaliumbromidlösung und 0,8 ml Kaliumpermanganatlösung pipettiert, gut gemischt und in den Reagenzgläsern mit Normschliff für Glasstopfen 15 Minuten stehen gelassen. Während dieser Zeit wiegt man zweckmässigerweise das Natriumnitrit ab und löst es in aqua dest. auf.

Anschliessend wird in jedes Reagenzglas 0,5 ml der soeben hergestellten Natriumnitritlösung pipettiert und gut umgeschüttelt, 0,5 ml Harnstofflösung zugesetzt und erneut umgeschüttelt. (KIMMIG und SCHIRREN geben in ihrer Methodik nach HARVEY an, sodann abzuwarten, bis keine Blasen mehr aufsteigen. Die Praxis zeigt jedoch, dass auch bei längerem Zuwarten noch Bläschen entweichen.)

Nach Zugabe von 10,0 ml Petroläther (bei Siedepunkt-Temperatur von 60-80°C) wird 40 Sekunden lang gut geschüttelt. Danach kann die untere wässrige Phase mit einer Pipette entfernt und verworfen werden. Die verbliebene Petrolätherschicht wird mit 2,0 ml aqua dest. durch 15 sekundenlanges Schütteln erneut gewaschen (sehr wichtig, ansonsten ist mit Trübungen zu rechnen !). Zusatz von Äthylenglykol zur (frisch angesetzten !) Natriumsulfidlösung und nach guter Mischung Zugabe von jeweils 5,0 ml der Mischung zu jedem Reagenzglas und Schütteln für 60 Sekunden.

Die untere gelbe Schicht wird gegen Leerwert (Filter S 470 m μ , 1,0 cm Schichtdicke) photometriert.

Mit verschiedenen Konzentrationen der Standardlösung (50 mg%, 100mg%, 200 mg%, 300 m $\frac{g}{\%}$, 400 mg%, 500 mg%) wird eine Eichkurve angefertigt.

Besonders zu beachten ist:

Während des ganzen Arbeitsganges muss in Eiswasser gearbeitet werden!

Die gelbe Farbe ist relativ instabil, daher Ablesung im Photometer nach genau 5 Minuten!

Durch Kondenswasser tritt an den kalten Küvetten eine Trübung auf!

Die Verwendung von Reagenzgläsern mit eingeschliffenen Glasstopfen hat sich als zweckmässig erwiesen!

Ergebnisse

Nach dieser Methode wurden in den Jahren 1964 bis 1969 im Rahmen der andrologischen Labortätigkeit an der Hautklinik der Freien Universität Berlin in insgesamt 1.679 Ejakulaten die Zitronensäurekonzentrationen bestimmt. Die dabei ermittelten Zitronensäurewerte zeigten eine Verteilung zwischen 5 und 800 mg%.

Tabelle I

AUTOREN	Zitronensäure		Fallzahl
HUGGINS u. NEAL (1942)	140 - 637	mg%	15
HARVEY (1951)	0 - 2340	mg%	371
NIERMANN (1961)	154 - 1174	mg%	64
SCHIRREN (1961)	0 - 1800	mg%	375
Eigene Untersuchungen	5 - 800	mg%	1679

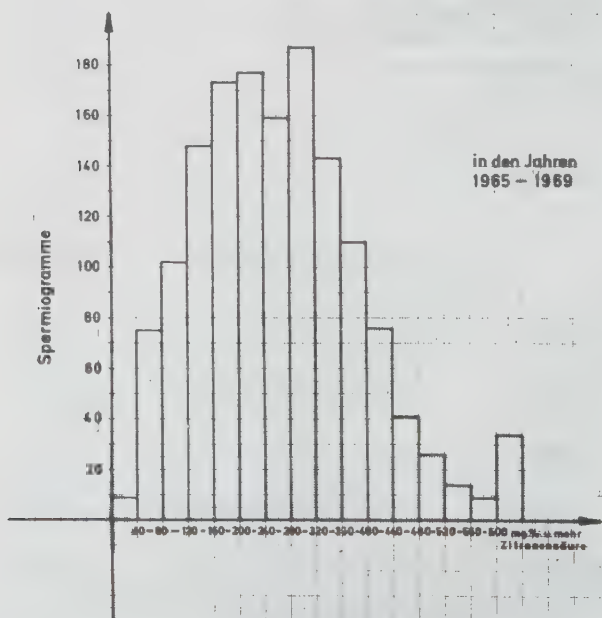
Die Tabelle I gibt die von den verschiedenen Autoren beim Menschen gewonnenen Ergebnisse der Zitronensäurekonzentrations-Bestimmungen wieder.

Eigene Untersuchungen erbrachten für die Zitronensäurekonzentration folgende arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen.

1965 in 159 Ejakulaten	289 mg%	± 128 mg%
1966 in 258 Ejakulaten	264 mg%	± 143 mg%
1967 in 276 Ejakulaten	279 mg%	± 124 mg%
1968 in 401 Ejakulaten	261 mg%	± 122 mg%
1969 in 389 Ejakulaten	259 mg%	± 117 mg%
$\emptyset$	270 mg%	± 127 mg%

Die Schwankungsbreite der Zitronensäurekonzentration kann demnach mit 143 bis 397 mg% angegeben werden.

Abbildung 1



Aus der Abbildung 1 ist die Verteilung der von uns in den Jahren 1965 bis 1969 ermittelten Zitratkonzentrationen ersichtlich.

In der vorgelegten Arbeit wird nunmehr der Frage nachgegangen, ob sich aus einem bestimmten Zitratgehalt für die praktische Spermatologie brauchbare Schlüsse ziehen lassen und zu welchen anderen Spermiogramm-Daten bei Fertilitätsuntersuchungen Korrelationen aufzufinden sind.

Das gilt insbesondere vom Verhältnis zur Ejakulatfructose, die uns unmittelbar über den Funktionszustand der Bläschendrüsen und mittelbar über die Produktion an männlichem Keimdrüsenhormon unterrichtet.

Die Korrelationsversuche ergeben sich aus der Notwendigkeit, die heutige praktische Spermatologie nicht nur mehr rein auf die morphologische Beurteilung der Spermatozoen zu beschränken, sondern die in den letzten Jahren gewonnenen biochemischen Erkenntnisse am Spermaplasma für die andrologische Diagnostik nutzbar zu machen.

Wie kann die Zitronensäure in die funktionelle Betrachtungsweise einbezogen werden?

Im folgenden wird über die Ergebnisse der Korrelationsversuche berichtet.

Zitronensäure und Ejakulatvolumen:

Nach McCULLAGH und SCHAFFENBERG kann aus der Auswurfmenge mit für praktische Bedürfnisse hinreichender Genauigkeit auf die Androgenproduktion geschlossen werden. Wenn Untersuchungen von MELAMPY, HOMEYER und PORTER li-

neare Beziehungen zwischen Fruktosekonzentration und Auswurfmenge aufdecken und GROPPER und NIKOLOWSKI hohe Fruktosewerte immer mit grossen Ejakulatvolumina und umgekehrt gekoppelt fanden, ist es naheliegend, auch die Zitratkonzentrationen in Beziehung zur Auswurfmenge zu setzen. Das Ergebnis ist aus der Abbildung 2 zu ersehen.

Abbildung 2

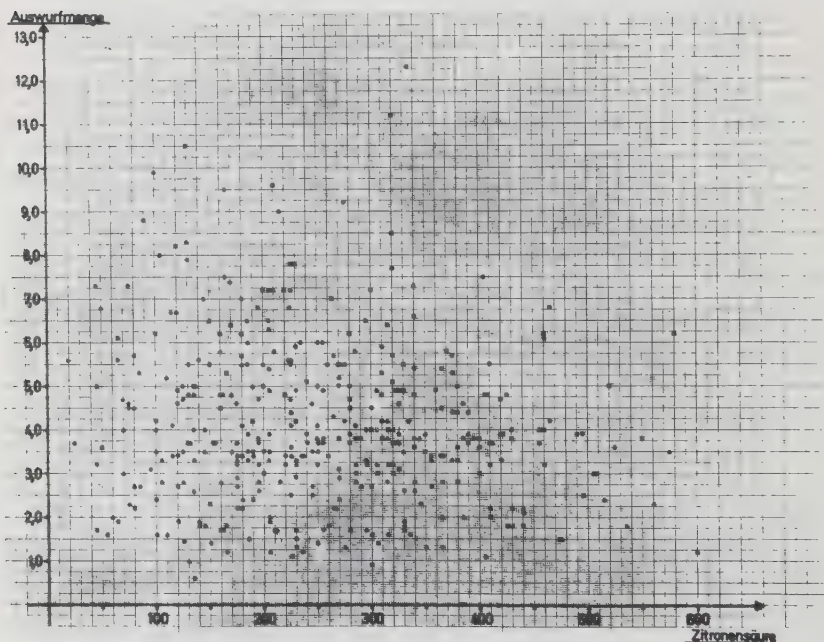


Abbildung 2 zeigt die Punktwolke von 390 Ejakulatmengen als Funktion der Zitronensäure.

Die Volumenmessungen erfolgten jeweils unter annähernd gleichen Bedingungen in der Art der Gewinnung (fast ausschliesslich per masturbationem in der Andrologischen Abteilung), der Auffangtechnik (Weithals-ERLENMEYER-Kolben) und unter Einhaltung der Regel DOEPFMER's über die sexuelle Karenz.

Die Abbildung zeigt einen so hohen Grad der Streuung, dass eine lineare Regression und damit eine Korrelationsberechnung nicht möglich ist.

Nach BELONOSCHKIN sind 2 bis 6 ccm als normale Samenvolumen anzusehen.

Bei einem Vergleich der Zitratkonzentrationen in übergrossen und sehr kleinen Ejakulatvolumina ergeben sich jedoch interessante Ergebnisse (siehe Tabelle II).

Tabelle II

Ejakulatvolumina in ccm	Zahl der unter- suchten Ejakulate	Arithmetischer Mittelwert in mg%	Standardabweichung s in mg%	Normalbereich $\bar{x} \pm s$ in mg%
weniger als 2	100	270	141	129 - 411
mehr als 8	49	224	108	116 - 332

Es lässt sich zeigen, dass in Ejakulaten mit kleinen Volumina höhere Zitratkonzentrationen zu finden sind als in grossvolumigen Samen. In der Verteilung nach STUDENT ist dieses Ergebnis statistisch gesichert ($0,025 > p > 0,0125$).

Wie sind diese Befunde zu interpretieren?

Nach BROESIKE dient das Prostatasekret dazu, die Spermatozoen vor den sauren Harnresten in der Urethra und dem sauren Vaginalschleim zu schützen, die Bewegungen der Spermatozoen zu grösserer Lebhaftigkeit zu bringen und bei mangelhafter oder fehlender Bildung des eigentlichen Spermas dasselbe wenigstens in einem gewissen Masse zu ersetzen. Dieses vikariierende Verhalten schliesst er in Einklang mit DISSELHORST aus vergleichend-anatomischen Untersuchungsbefunden, nach denen Tiere mit schwach entwickelter Prostata (Stier, Eber, Schaf, Katze) im Verhältnis zum Körpergewicht stark entwickelte Hoden besitzen, während Tiere mit gut entwickelter Prostata (Hund, Pferd, Mensch) verhältnismässig kleine Testikel haben.

Nach den vorliegenden Ergebnissen über das Verhältnis der Zitratkonzentrationen zu den Ejakulatvolumina kann dem von OETTLE als "Vorfraktion" bezeichneten und aus der Prostata stammenden Sekretanteil keinesfalls die quantitative Bedeutung zukommen, welche ihm BROESIKE zuschrieb.

Geht man davon aus, dass die alleinige Bildungsstätte der Zitronensäure zumindestens beim Menschen die Pro-

stata ist (SCHERSTÉN), so errechnet man bei normalen Ejakulatvolumina zwischen 2 bis 6 ccm und durchschnittlichen Zitronensäurekonzentrationen von 270 mg% einen absoluten Zitronensäureanteil von 5,4 bis 16,2 mg pro Auswurfmenge, der einem Anteil von 2,7 % entsprechen würde. SCHERSTÉN gibt den Promilleanteil der Zitronensäure am isoliert untersuchten Prostatasekret (als Material dienten ihm Prostataedrüsen von 7 obduzierten Personen; die Analysen ergaben ziemlich übereinstimmende Resultate) mit $7,00 \pm 0,30$ an.

Demnach beträgt der rechnerische Anteil des Prostatasekretes am Gesamtejakulatvolumen 38,6 %!

Die hier untersuchten 100 Parvisemien zeigten einen signifikant höheren Zitratanteil als die 49 Multisemien, bei denen ganz offensichtlich das Ejakulatvolumen zumeist vom fruktosereichen Bläschendrüsensekret aufgefüllt wird, während bei den ersteren aufgrund unvollständiger Ejakulationen, Missbildungen oder Erkrankungen im Bereich der Adnexe (speziell der Samenbläschen) oder Leydigzellinsuffizienzen (!) das Volumen vorwiegend der Prostatabei-trag ist, erkennbar am "Indikator" Zitronensäurekonzentration.

Für die praktische Spermatologie kann daraus gefolgert werden, dass Parvisemien (Ejakulatvolumen unter 2 ccm) mit hohen Zitronensäurekonzentrationen auf Erkrankungen der Bläschendrüsen (Spermatocystitis?) untersucht werden sollten.

Über die sekretorische Leistung der Prostata wird nochmals im Kapitel: Zitronensäure und Fruktose zu sprechen sein.

Zitronensäure und pH-Wert des Samens:

Untersuchungen der Wasserstoffionenkonzentrationen der soeben besprochenen Multi- und Parvisemien ergaben folgendes Resultat:

In 42 Parvisemien (Auswurfmengen unter 2 ccm) lagen die pH-Werte bei $7,4 \pm 0,34$ und in den 40 untersuchten Multisemien (Auswurfmengen über 8 ccm) bei $7,3 \pm 0,22$. Der Unterschied liess sich statistisch jedoch nicht sichern (p ausserhalb der Signifikanzschränken). Dass von einem biologischen Puffersystem der Zitronensäure in diesem pH-Bereich nicht gesprochen werden kann, wurde in der Einleitung schon erwähnt.

Zitronensäure und Lebensalter:

Während die altersbedingte Abnahme der Spermafruktose dem Abfall der Androgenproduktion in den Testes eng korreliert ist (KIMMIG, STEENO, SCHIRREN) und im Zusammenhang mit dem Rückgang der 17-Ketosteroidausscheidung im Urin bei steigendem Lebensalter (HAMBURGER, HAMILTON und JOHNSON) einerseits und der altersabhängigen Abnahme von LEYDIG-Zellen in Hodenbiopsie-Präparaten andererseits (TILLINGER) steht, sind Angaben über das altersabhängige Verhalten des anderen "chemischen sekundären Geschlechtsmerkmals", der Zitronensäure, aus der studierten Literatur nicht zu erhalten.

Es wurden zwei Untersuchungsgruppen gebildet. Die erste Gruppe umfasst 100 Ejakulate von Patienten im Alter von 20 bis 30 Jahren. Aus dieser Altersgruppe rekrutiert sich die überwiegende Mehrzahl der wegen Fertilitätsstörungen

den Andrologen aufsuchenden Patienten.

Die zweite Gruppe der 50 bis 60jährigen hat begreiflicherweise am Patientengut einen geringen Anteil. In sechs Jahren andrologischer Tätigkeit konnten nur 45 Samen diesbezüglich ausgewertet werden. Der ältere Mann sucht nur in seltenen Fällen die andrologische Sprechstunde wegen dringenden Kinderwunsches auf; er hat sich mit dem Schicksal der Kinderlosigkeit abgefunden. Des weiteren ist er auch nur schwer zu bewegen, in dem nüchternen Untersuchungsraum per masturbationem zu ejakulieren. So sind die wenigen Ejakulate der Altersgruppe der 50 bis 60jährigen mitunter nicht selten von zu Hause mitgebrachte Kondom- oder Fläschchen-Asservate von zweifelhafter Dignität.

Tabelle III

Altersgruppen in Jahren	Anzahl der Samen	Zitronensäurekonzentrationen in mg%
20 - 30	100	289 $\pm$ 107
50 - 60	45	240 $\pm$ 125

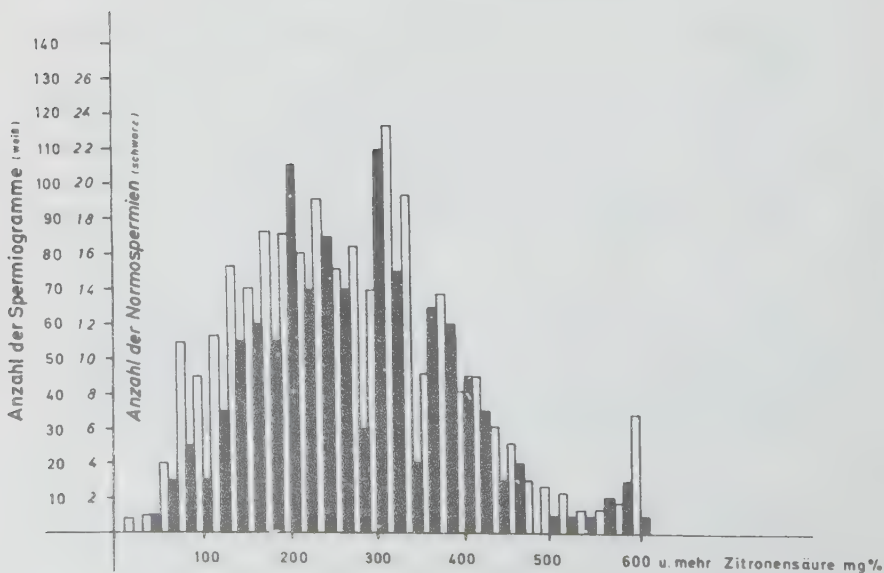
In der Tabelle III wird gezeigt, dass es im Alter zu einer Erniedrigung der Zitronensäurekonzentrationen kommt (das Ergebnis ist mit einem $p < 0,495$ innerhalb der Signifikanzschranken statistisch gesichert), offenbar als Ausdruck einer anteilmässigen Verminderung des Prostatasekrets am kleineren Gesamtejakulatvolumen beim älteren Manne.

Zitronensäure und Spermienmorphologie:

Bei HEINKE und DOEPFMER finden sich Angaben über Zitronensäurekonzentrationen über der Norm bei Männern "mit einer hohen Fertilität", während sich die Durchschnittswerte der Fruktosekonzentrationen bei eben den gleichen Patienten unterhalb der Norm bewegen sollen.

Es handelt sich hierbei offenbar um eine Mitteilung von HARVEY, der beobachtet hatte, dass ein niedriger Zitratgehalt häufig mit einem hohen Fruktosegehalt im Spermaplasma korreliert war und umgekehrt (siehe auch Zitronensäure und Fruktose).

Abbildung 3



Die weissen Kolumnen der Abbildung 3 zeigen die Verteilung der Zitratkonzentrationen in insgesamt 1.483 Spermogrammen der Jahre 1965 bis 1969 ohne besondere Berücksichtigung einer spermiologischen Diagnose an.

Die zugesellten schwarzen Kolumnen geben den Verteilungstyp von Zitratkonzentrationen der im gleichen Zeitraum untersuchten 233 Normospermien wieder.

Es kann von einem gleichen Verteilungstyp gesprochen werden.

Unter Normospermien ist hier der folgende spermiologische Begriff zu verstehen:

Die Beurteilung fusst auf dem Ergebnis einer gründlichen Ejakulatuntersuchung nicht nur im Hinblick auf die Bestimmung der korpuskulären Spermaanteile, sondern auch und vor allen Dingen auf Überprüfung der morphologischen und funktionellen Wertigkeit derselben.

Als Kriterium dienen: Spermindichte, quantitative Motilität, qualitative Motilität (Kinetik) und Morphologie der Spermien sowie deren Fruktolyse als Ausdruck der Stoffwechselaktivität.

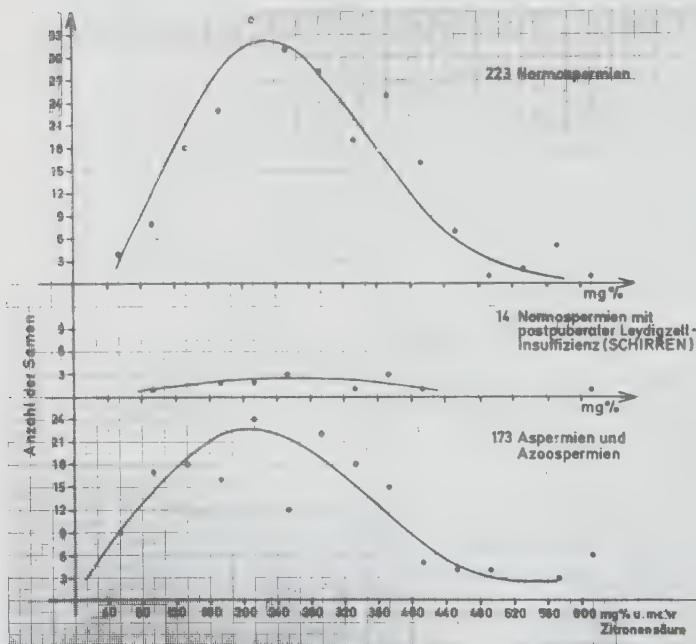
Gemäss der von KADEN (1968) in Anlehnung an VASTERLING vorgeschlagenen Einteilung in 3 Gruppen würden die vom Autor untersuchten 223 "Normospermien" mit dem Prädikat: "keine bzw. keine nennenswerte Fertilitätsstörung" versehen werden müssen.⁺⁾

^{+) Nach KADEN gehören zu dieser Gruppe Samen mit folgenden Normen für die Einzelfaktoren:}

Spermindichte: ca. 60 Mill./ml; Motilität nach 2stündiger Beobachtung, quantitativ 60-80 %, qualitativ: lebhafte Beweglichkeit; Morphologie: 60-80 % normal geformte Zellen; Fruktose-Wert über 1.200 γ /ml und Fruktolyse nach 5stündiger Beobachtungszeit ca. 500 γ /ml.

In der Auswahl der "Normospermien" wurde weiterhin darauf geachtet, dass kein Einzelfaktor aus diesem Rahmen fiel. Insofern handelt es sich um eine strengere Auswahl als der von KADEN geforderten. Die Beurteilung des spermiologisch ermittelten Fertilitätsgrades sinkt hierbei nicht tiefer als "keine nennenswerte Fertilitätsstörung" herab.

Abbildung 4



In der Abbildung 4 sind drei Untersuchungsgruppen gegenübergestellt.

Zumindestens lassen die Normospermien und die Aspermien-Azoospermien eine gleiche Zitratkonzentrationsverteilung erkennen, und in den 14 Fällen mit fassbarem Androgen-Defizit, wie es in den Fällen mit der sogenannten postpuberalen Leydigzellinsuffizienz (SCHIRREN) durch eine Erniedrigung der Initialfruktose im Spermaplasma nachzuweisen ist, fehlt ebenfalls der Verteilungsgipfel bei niedrigen Zitratkonzentrationen. Mithin können die Untersuchungsbefunde SCHIRREN's bestätigt werden, dass die Zitratkonzentrationen bei der postpuberalen Leydigzellinsuffizienz niemals erniedrigt sind.

Zitronensäure und Spermienmotilität:

Es soll geprüft werden, inwieweit die Zitratkonzentrationen mit der Motilität der Spermien zu korrelieren sind.

Als erster erkannte FÜRBRINGER die Bedeutung des Prostatasekretes für die Lebhaftigkeit und Dauer der Samenbewegungen. Er beobachtete, dass die spontan entleerten Spermatozoen in der Samenflüssigkeit eines an einer Defäkations-spermatorrhoe leidenden Mannes unbeweglich blieben, die bei dem gleichen Patienten nach einer normalen Ejakulation lebhaft beweglich waren. 1886 formulierte er die physiologische Bedeutung des Prostatasekretes so: "..., dass das frische Sekret der Drüsenzellen der Prostata ... imstande ist, das in den Spermatozoen schlummernde Leben vermöge spezifischer vitaler Eigenschaften auszulösen und ihnen, sit venia verbo, das sichtbare Leben zu geben."

In der Folgezeit wurde diese wichtige Funktion des Prostataaftes von ELLIS, UTMANN, FINGER, MONLIN u. a. bestätigt.

Mit der Frage, ob es sich dabei um die Wirkung eines spezifischen Stoffes handele, beschäftigte sich als erster HIROKAWA 1909, der in seinen Untersuchungen einen spezifischen biologischen Einfluss in Abrede stellt und lediglich dem anorganischen Alkali die ausschliessliche Wirkung auf die Auslösung der Spermienbeweglichkeit zubilligte. Für ihn bot die Alkaleszenz, welche die Vitalität der Samenfäden erheblich zu steigern vermochte, eine ausreichende Erklärung. FÜRBRINGER's Hypothese von einem besonderen spezifischen Stoff lehnte er ab.

Wenngleich die Untersuchungen HIROKAWA's, durch Ringer-Lösung, LOCKE-Lösung, künstliches Seewasser, Zuleitung von Sauerstoff und Wasserstoff, gerinnungshemmende und -fördernde Stoffe, Dextrose, Rohrzucker und Pepton die Lebensfähigkeit der Spermien zu verlängern, misslangen und erst nach Zusatz von 0,7 % NaCl-Lösung mit verschiedenen Konzentrationen von NaOH ein vitalisierender Effekt einsetzte, vermisst man an den Untersuchungen HIROKAWA's bei aller Zielstrebigkeit den zwingenden Rückschluss: Wie steht es mit der Spermienvitalität bei all den untersuchten Stoffen nach Zusatz von Alkali?

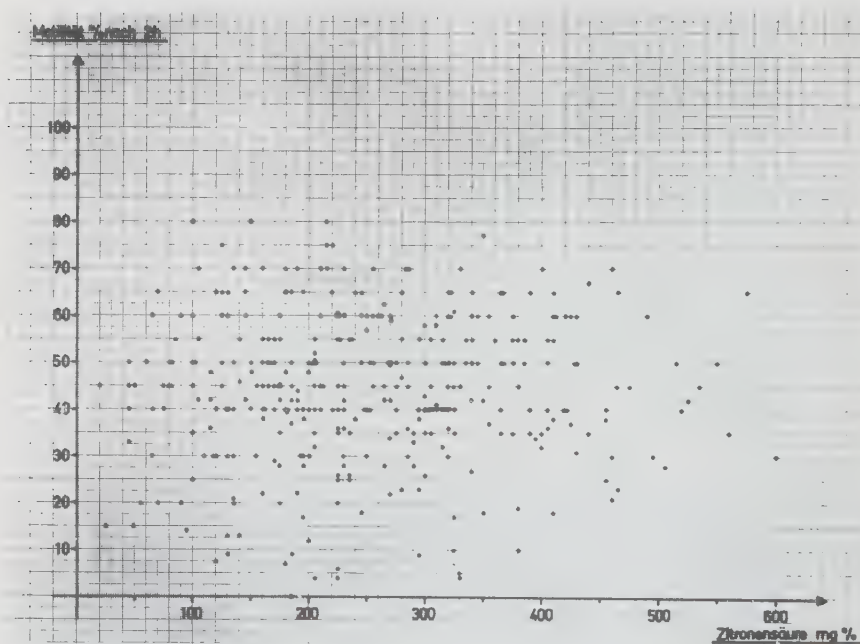
Nachprüfungen von METTENLEITER ergaben, dass derartige titrimetrische Sättigungsmethoden zur Reaktionsbestimmung zu ungenau erscheinen, da sie den bei allen biologischen Prozessen bedeutsamen Faktor der Wasserstoffionenkonzentration unberücksichtigt lassen. Darüber hinaus entbehrt die Theorie HIROKAWA's meines Erachtens schon deshalb der Grundlage, weil kein alkalischer pH des Prostatagewebes vorhanden ist.

METTENLEITER rückte damit ganz allgemein die Bedeutung des Prostatasekretes und im besonderen die Wasserstoffionenkonzentration für die Auslösung der Spermienvitalität in den Mittelpunkt des Interesses.

So unterzog SCHERSTEN nach seiner Entdeckung der Zitronensäure in der Prostataflüssigkeit die Frage, in welcher Weise das Zitrat auf die Motilität der Spermien einwirkt, einer eingehenden Prüfung. Er fand bei Verdünnungsversuchen von Nebenhodenspermien bei Kaninchen, Maus, Eber, Schafbock und Stier mit Kochsalz-, Ringer- und Tyrodelösungen nach Zusatz von Natriumzitrat in vielen Fällen eine erhebliche Steigerung der Lebensdauer der Spermien.

In neuerer Zeit hat sich NIERMANN(1961) bemüht, Relationen zwischen Spermienzitrat und Motilität aufzuzeigen. Er formuliert aufgrund seiner kleinen Zahl von Untersuchungen vorsichtig, dass niedrige Zitronensäurewerte mit einer herabgesetzten Spermienbeweglichkeit einhergehen können. Wenngleich er bei 13 Samen mit Zitratwerten unter 250 mg% bei 10 Ejakulaten herabgesetzte und nur bei 3 Samen normale Spermienmotilitäten fand, muss festgestellt werden, dass die kleine Zahl von 64 Samenuntersuchungen zu einer Beurteilung nicht ausreicht.

Abbildung 5



In der Abbildung 5 ist die Motilität der Spermien als Funktion der Zitratkonzentration von insgesamt 359 Ejakulaten dargestellt. Die hohe Streuung macht weitere Korrelationsversuche zunichte.

Zitronensäure und Wiederverflüssigung:

Im Anschluss an die Ejakulation nimmt beim Menschen der Samen nach Austritt aus der Urethra eine gallertige Konsistenz mit Bildung von sagoartigen Partikeln an. Dieser Vorgang wird als Koagulation bezeichnet und währt nur für kurze Zeit.

Die allmähliche Wiederverflüssigung erfolgt langsam mit Zurückbleiben einiger unaufgelöster Inselchen, ist unabhängig von dem Vorhandensein von Spermien auslösbar und stellt einen fermentativen Vorgang dar. Am Ende resultiert eine einheitliche Endphase. Nach neueren Angaben OETTLE's liegt die gelatinöse Fraktion bereits im Gelzustand in der Samenblase vor und kann in nicht geringer Zahl von Spermien durchdrungen werden.

Mit der langsamen Verflüssigung kommt die Beweglichkeit der Spermien in Gang, die nach HAMMEN vor der Verflüssigung gänzlich unbeweglich wie in einem Eisblock eingebettet liegen.

HUGGINS und NEAL fanden in der menschlichen Prostata "Fibrinogenase und Fibrinolysin". Beide scheinen die Wiederverflüssigung des Samens zu regulieren (KIMMIG).

Von HUGGINS und NEAL wurde auch ein Zusammenhang von Zitronensäure und Kalzium mit Gerinnung und Wiederverflüssigung des Samens vermutet.

Heute wird allgemein angenommen, dass eine erhöhte Zitratkonzentration einen Einfluss auf die Beschleunigung der Wiederverflüssigung des Sperma hat. Danach sollen hohe Konzentrationen an Zitrat im Prostatasekret die Sperma-koagulation möglicherweise verkürzen.

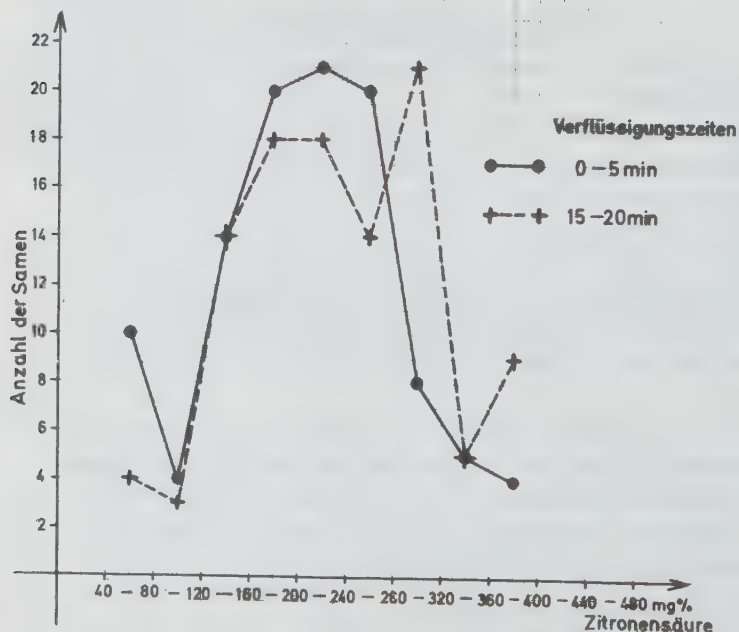
Experimentelle Beweise für die Annahme eines solchen Einflusses konnten anhand der studierten Literatur nicht gefunden werden.

Die Wiederverflüssigungszeiten werden von den Autoren wie folgt angegeben:

JOEL	20 bis 30 Minuten
MOENCH	10 bis 15 Minuten
Eigene Untersuchungen	1 bis 35 Minuten (im Mittel 18 Minuten)

Im eigenen Untersuchungsgut von 384 untersuchten Samen schwankten die Wiederverflüssigungszeiten zwischen 0 und 120 Minuten, wobei berücksichtigt werden muss, dass zwischen Ejakulationszeitpunkt und Abgabe des Samens im andrologischen Labor in der Regel 5 Minuten verstrichen sind aufgrund der räumlichen Distanz von 3 Stockwerken.

Abbildung 6



Es wurden zwei Untersuchungsgruppen gebildet, von denen die Verteilung der Zitratkonzentrationen graphisch dargestellt ist. Sowohl in der Gruppe mit schneller^v Wiederverflüssigung (0-5 Minuten) als auch in der Gruppe mit langsamerer Verflüssigung (15-20 Minuten) zeigt sich der gleiche Verteilungstyp.

Die Vermutung, die Zitronensäurekonzentration sei von Einfluss auf die Beschleunigung der Wiederverflüssigung, lässt sich hiermit also nicht beweisen.

Zitronensäure und Fruktose:

Abschliessend wird der Versuch unternommen, die gefundenen Zitratkonzentrationen zu dem biologischen Parameter der Fruktosekonzentrationen in Beziehung zu setzen.

Wie einleitend schon ausgeführt wurde, entfalten Samenblasen und Prostata unter dem Einfluss der in der Pubertät einsetzenden Testosteronproduktion ihre sekretorischen Funktionen. Die im Samenblasensekret zu findende Fruktose ist wie die in der Prostataflüssigkeit anzutreffende Zitronensäure und saure Phosphatase in ihrer Konzentration von der Androgenstimulation dieser Drüsen direkt abhängig. Man kann sie daher gewissermassen als "chemische sekundäre Geschlechtsmerkmale" kennzeichnen.

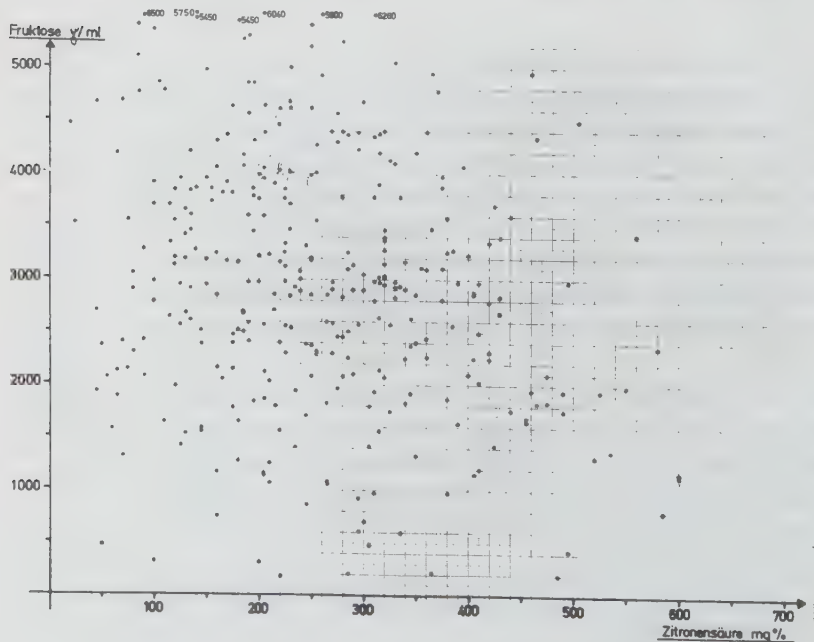
Über die Bedeutung der Ejakulatfruktose findet man von MANN (1950) bis hin zu KIMMIG, STEENO und SCHIRREN (1967) erschöpfende Darstellungen und Würdigungen. Die Fruktose nimmt den bei weitem grössten Raum in der biochemischen Erforschung des Spermas ein.

Unbestrittene Bedeutung hat die Bestimmung der Fruktose-Konzentration für die praktische Andrologie als ausschliessliches diagnostisches Kriterium bei der Erkennung der schon weiter oben erwähnten "postpuberalen Leydigzellinsuffizienz" (SCHIRREN).

Seit HUMPHREY und MANN die engen Beziehungen zwischen Keimdrüsenaktivität und Zitratbildung in der Prostata erkannten, fehlte es nicht an Korrelationsversuchen zwischen Fruktose- und Zitratkonzentrationen.

Nach HARVEY ist ein hoher Zitratgehalt im Sperma oft mit einer niedrigen Fruktosekonzentration gekoppelt und umgekehrt. Ähnliche Beobachtungen in neuerer Zeit machte KADEN (1968), allerdings mit zurückhaltender Deutung wegen zu geringer Fallzahl.

Abbildung 7



Die Abbildung 7 zeigt eine grosse Streuung der Bezugspunkte Fruktose - Zitratkonzentration in insgesamt 437 Samen an, woraus ersichtlich wird, dass eine statistische Korrelation nicht gegeben ist.

Dieses Verhalten muss bei der hormonabhängigen Bildung beider Substanzen eigentlich überraschen.

Worin sind die Ursachen hierfür zu suchen?

Im Kapitel "Zitronensäure und Ejakulatvolumen" wurde auf den niedrigen Sekretanteil fruktosehaltiger Bläschendrüsensflüssigkeit am Ejakulatvolumen bei Parvisemien hingewiesen, erkennbar an der höheren Zitratkonzentration infolge grösseren Prozentanteiles an Prostatasekret.

SCHIRREN nimmt an, dass die Diskrepanz zwischen Fruktose- und Zitronensäuretest wohl hauptsächlich den Bildungsstätten dieser beiden Substanzen anzulasten ist, die in ihrer Organgrösse erheblich voneinander differieren.

Damit wird man meines Erachtens dem Problem insofern nicht gerecht, als über den jeweiligen Funktionszustand des Systems Prostata-Bläschendrüsen noch nichts ausgesagt ist.

Die folgenden Untersuchungen sollen einen Beitrag zur Klärung dieser Frage liefern, insbesondere zur Kenntnis der sekretorischen Leistungen beider Drüsen unter besonderen Belastungen.

Zu diesem Zweck erfolgten die spermatologischen Untersuchungen in Abweichung von den Regeln DOEPFMER's über den günstigsten Zeitpunkt der Ejakulatuntersuchung nach einer Karenzzeit von 5 Tagen in unserem Falle an 37 Probanden mit Doppeluntersuchungen nach extrem kurzer Karenzzeit.

Die Bedeutung der sexuellen Karenz für die Beurteilbarkeit des Samenbefundes geht aus Untersuchungsergebnissen von MacLEOD und GOLD, FARRIS, V. LANZ, LAMPE und MASTERS sowie DOEPFMER hervor.

Unseren ausnahmslos jüngeren Probanden, die wegen dringenden Kinderwunsches nach längerer steriler Ehe die andrologische Sprechstunde aufsuchten, wurden nach einer Mindest-Karenzzeit von 5 Tagen die Mühen einer zweimaligen Ejakulatgewinnung per masturbationem innerhalb eines Zeitraumes von 90 Minuten (!) aufgebürdet. ⁺)

⁺) Die unter den Bedingungen der Ejakulatgewinnung per masturbationem extrem niedrige Karenz von 90 Minuten wurde gewählt, um die Leistungsgrenze von Prostata und Bläschendrüssen aufzudecken.

FALL-Nr.	FRUKTOSE-INITIALWERT IN %/ML			ZITRONENSÄURE IN MG%			AUSWURFMENGE IN CCM		
	I	II	ΔII-I	I	II	ΔII-I	I	II	ΔII-I
1	3000	3340	340	240	150	90-	4,6	2,0	2,6-
2	3760	4520	760	225	185	40-	2,7	1,5	1,2-
3	1940	2560	620	310	255	55-	3,5	1,4	2,1-
4	3170	4920	1750	170	100	70-	2,9	1,5	1,4-
5	2540	3070	530	250	195	55-	9,3	3,6	5,7-
6	2590	2990	400	190	65	125-	7,0	4,5	2,5-
7	3110	3440	330	375	325	50-	4,8	2,3	2,5-
8	1830	2870	1040	265	90	175-	2,2	2,3	0,1+
9	3260	4090	830	380	210	170-	5,0	2,0	3,0-
10	2850	2330	520-	215	120	95-	2,4	1,3	1,1-
11	4610	5060	450	220	175	45-	4,9	1,6	3,3-
12	2410	1440	970-	90	90	0	1,2	0,9	0,3-
13	2890	4060	1170	240	115	125-	5,8	5,8	0
14	4460	4460	0	220	120	100-	3,7	2,1	1,6-
15	1560	1720	160	315	145	170-	3,0	1,8	1,2-
16	1920	2450	530	345	225	120-	4,1	2,6	1,5-
17	2860	3180	320	250	160	90-	2,9	3,2	0,3+
18	2400	1970	430-	220	175	45-	4,7	1,6	3,1-
19	4010	4790	780	255	205	50-	6,4	5,3	1,1-
20	975	1280	305	310	150	160-	3,9	2,4	1,5-
21	2080	1940	140-	250	325	75+ 5	1,6	0,65	0,9-
22	1150	1540	390	205	250	45+ 4	1,9	1,1	0,8-
23	5260	5100	160-	185	90	95-	5,1	3,2	1,9-
24	4750	5050	300	85	90	5+ 1	2,5	1,5	1,0-
25	4370	5100	730	315	130	185-	4,8	4,0	0,8-
26	4250	4560	310	275	170	105-	3,8	2,8	1,0-
27	4170	4640	470	185	145	40-	1,7	1,0	0,7-
28	2030	1940	90-	210	180	30-	1,7	1,3	0,4-
29	202	178	24-	485	320	165-	2,3	0,9	1,4-
30	1330	1096	234-	350	145	205-	2,1	0,9	1,2-
31	2600	2840	240	265	160	105-	3,5	1,7	1,8-
32	3780	3990	210	280	200	80-	4,9	2,8	2,1-
33	3320	3480	160	245	265	20+ 3	3,2	1,9	1,3-
34	2270	3290	1020	360	160	200-	5,0	3,5	1,5-
35	2440	990	1450-	360	330	30-	1,8	0,3	1,5-
36	4200	3710	490-	135	80	55-	2,8	2,0	0,2-
37	478	415	63-	305	315	10+ 2	1,7	0,65	1,0-
	T ₋ = 66			T ₋ = 651			T ₋ = 663		
	T ₊ = $\frac{600}{666}$			T ₊ = $\frac{15}{666}$			T ₊ = $\frac{3}{666}$		
PROBE	$\frac{N(N+1)}{2}$								
BEI 36 PAAREN	= 666			= 666			= 666		

In der Tabelle IV sind die Ergebnisse der Bestimmungen von Auswurfmengen, Zitronensäure- und Fruktosekonzentrationen zusammengefasst.

Ebenso wie die Befunde von FARRIS sowie LAMPE und MASTERS bestätigt werden konnten, wonach es in Ejakulaten nach kurzer sexueller Karenz sowohl zu einer Reduktion der Auswurfmengen als auch der Spermiendichten (die in der Tabelle nicht dargestellt sind) kommt, liess sich auch die Angabe von LAMPE und MASTERS (Kurz-karenzen von 12, 24 und 36 Stunden) bestätigen, dass die Spermienmotilitäten nach wiederholten Ejakulationen weitgehend unbeeinflusst bleiben würden.

Diese Untersuchungsergebnisse widerlegen eindeutig ältere Befunde, z. B. von METTENLEITER, MANTEGAZZA und IWANOFF, die trägere und kraftlosere Spermatozoenbewegungen in kurz hintereinander gewonnen Samen registriert hatten.

Des weiteren konnte bei den hier vorgelegten Untersuchungen eine wesentliche Veränderung der Spermienmorphologie nach 90 Minuten nicht beobachtet werden.

Ein auffälliges Verhalten zeigten lediglich die Zitrat- und Fruktosekonzentrationen im zweiten Ejakulat (siehe Tabelle IV).

Bei einer Verminderung der Zitronensäurekonzentrationen von 259 mg% (arithmetischer Mittelwert) im ersten Ejakulat um 80 mg% auf 179 mg% im zweiten Ejakulat kam es gleichzeitig zu einer durchschnittlichen Erhöhung des

initialen Fruktosewertes von 2 833 γ /ml im ersten Ejakulat um 259 γ /ml auf 3 092 γ /ml im zweiten Ejakulat nach 90 Minuten.

Die statistische Sicherung erfolgte nach Rangierung der Paardifferenzen mit dem Rangtest von WILCOXON.

Der Prüfquotient $\frac{T_+ - T_-}{\sqrt{6T_+}}$ beträgt dabei in den drei

Fällen:

$c\alpha = 4,97$ für die Zitronensäuredifferenzen

$c\alpha = 4,1$ für die Fruktosedifferenzen

$c\alpha = 5,2$ für die Auswurfmengendifferenzen

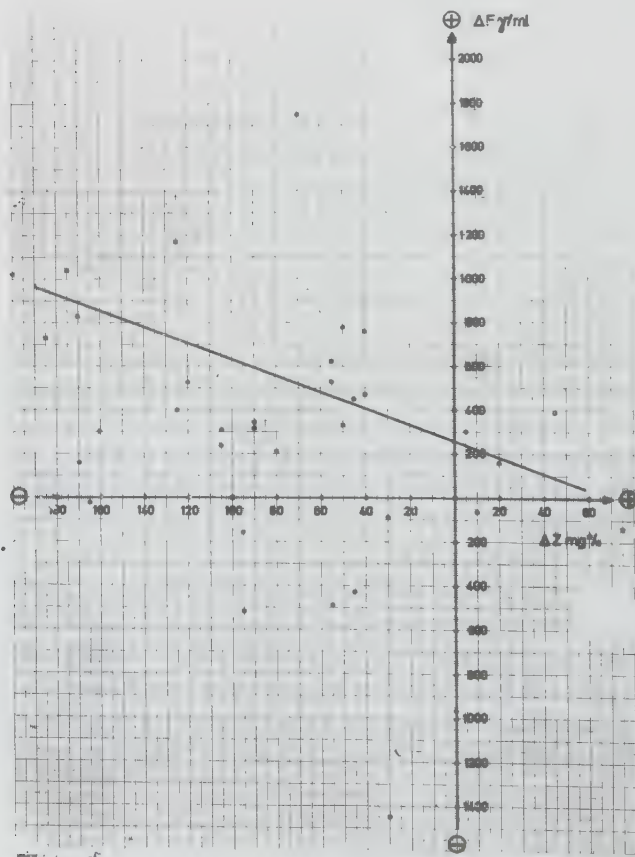
Hierfür gilt eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,1 \%$ für alle drei Paardifferenzgruppen.

Geht man von der Voraussetzung aus, dass es sich bei den 37 Probanden um einen homogenen Versuchsansatz handelt, der einem statistischen Modell entsprechen würde, so ist die Zitronensäurekonzentration im zweiten Ejakulat mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1 % niedriger als im ersten Ejakulat.

Bei der Errechnung der absoluten Fruktosemenge im Samen, die sich aus der Konzentration mal dem Ejakulatvolumen ermitteln lässt, ergibt sich bei der oben beschriebenen Abnahme der Auswurfmenge im zweiten Ejakulat auch eine Verminderung der absoluten Fruktosemenge (statistisch mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1 % gesichert !).

Wenngleich diese Voraussetzung eines homogenen Versuchs-
ansatzes dadurch eine Einschränkung erfährt, dass es sich
bei den untersuchten 37 Probanden um Männer verschiedenen
Alters und verschiedener klinisch-andrologischer bzw. sper-
matologischer Diagnosen handelt, lassen sich aus den Ergeb-
nissen doch interessante Rückschlüsse ziehen.

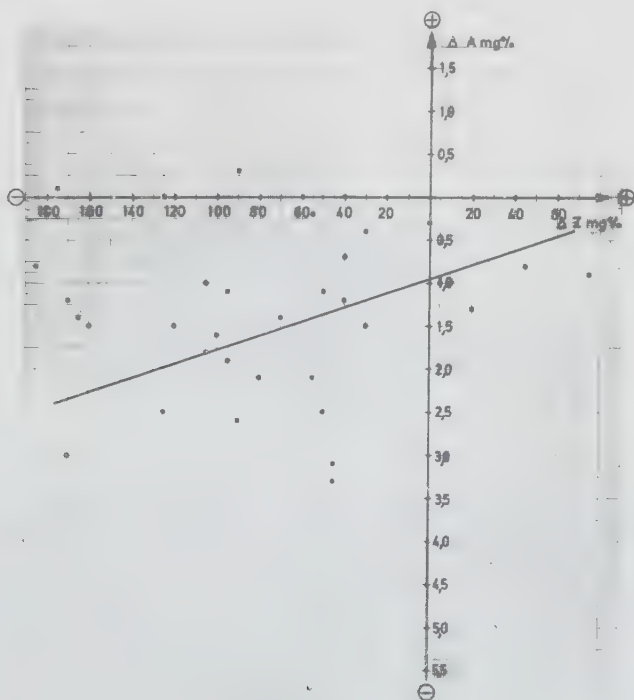
Abbildung 8



In der Abbildung 8 sind die Konzentrationsdifferenzen der Fruktose ($\Delta F = F_{II} - F_I$) als Funktion der Zitronensäure-Konzentrationsdifferenzen ($\Delta Z = Z_{II} - Z_I$) dargestellt.

Die Haufung der Bezugspunkte im linken oberen Quadranten lässt das Anlegen einer Regressionsgerade zu. Es resultiert: Je niedriger die Zitratkonzentration im zweiten Ejakulat (die Negativität von ΔZ steigt an), desto höher die Fruktosekonzentration im zweiten Ejakulat (die Positivität von ΔF nimmt zu).

Abbildung 9



In der Abbildung 9 wird das Verhalten der Zitratkonzentration (ΔZ) zur Differenz der Auswurfmenngen (ΔA) verdeutlicht.

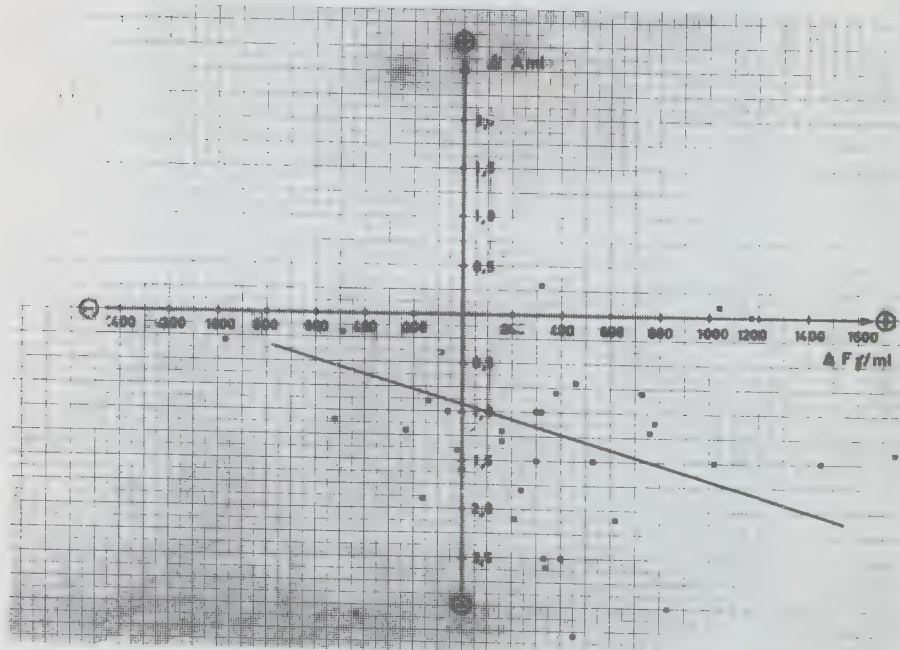
Je stärker die Samenvolumina bei der Zweit-Ejakulation erniedrigt sind, desto höher ist auch der Zitratkonzentrationsabfall.

Das kann nur heissen:

Nach schnell aufeinanderfolgenden Ejakulationen wird der sekretorische Beitrag der Prostata an der Auffüllung des Seminalplasma gering sein, bisweilen fehlen können.

Aus dem in dieser Arbeit schon dargelegten Äusserungen im Kapitel "Zitronensäure und Ejakulatvolumen" geht hervor, dass in übergrossen Ejakulatvolumina (Multisemien) der Bläschendrüsensekretanteil überdurchschnittlich hoch sein muss.

Abbildung 10



Die Abbildung 10 macht deutlich, dass mit sinkendem Ejakulatvolumen (ΔA stärker negativ) die Fruktosekonzentration (ΔF grösser positiv) im Zweit-Ejakulat zunimmt.

Somit kann gesagt werden, dass nicht nur die grossvolumigen Samen vorwiegend aus Bläschendrüsensekret bestehen, sondern dass auch Samen, die in kurz aufeinanderfolgenden Ejakulationen ausgeschleudert werden, vorwiegend mit Bläschendrüsensekret komplettiert werden, während die Prostata infolge sekretorischer Erschöpfung ihren Beitrag versagt.

Aus diesen Untersuchungen kann allerdings nicht geschlossen werden, ob die Glandulae vesiculares eine höhere Bildungsrate fruktosehaltiger Sekretmengen aufweisen oder pro ejaculationem nur unvollständig entleert werden und quasi ein Sekretreservoir darstellen können.

In diesen funktionellen Besonderheiten der beiden Drüsen Prostata und Bläschendrüsen ist der Grund dafür zu sehen, dass der Zitronensäuretest von MANN für die andrologische Diagnostik von Störungen der endokrinen Hodenfunktion nicht geeignet ist. Dass eine Abhängigkeit der Zitronensäureproduktion von der Tätigkeit der LEYDIG-Zellen nicht in dem Masse nachzuweisen ist, wie es für die Fruktose der Fall ist (SCHIRREN), trifft sicherlich nur für das komplette Seminalplasma zu, nicht jedoch für die isoliert untersuchte Prostatasflüssigkeit.

Für diese gelten die schon von SCHERSTÉN vermuteten und von HUMPHREY und MANN bewiesenen Abhängigkeiten der Zitratsbildung von der männlichen Keimdrüsenaktivität.

Zusammenfassung:

Die vorliegende Arbeit stellt einen Versuch dar, das Vorkommen der Zitronensäure im menschlichen Spermaplasma einer vergleichenden Untersuchung zu unterziehen.

Die auch heute noch weitgehend ungeklärte physiologische Bedeutung der Zitronensäure im Samen wurde zum Anlass genommen, anhand einer grossen Zahl von 1.679 per masturbationem gewonnenen Ejakulate von unausgewählten Patienten der Andrologischen Abteilung der Hautklinik der Freien Universität Berlin die gefundenen Zitronensäurewerte zu anderen spermiologischen Daten in Beziehung zu setzen.

Der Versuch rechtfertigt sich aus der Notwendigkeit, die in den letzten Jahren gewonnen biochemischen Erkenntnisse am Spermaplasma auch bezüglich der Zitronensäure zu berücksichtigen und eventuell für die andrologische Diagnostik und die praktische Spermatologie nutzbar zu machen.

Im einzelnen wurden folgende Ergebnisse erzielt:

1. Die Zitronensäurekonzentrationen im Spermaplasma zeigen grosse individuelle Schwankungsbreiten. Die durchschnittliche Zitratkonzentration beträgt $270 \text{ mg}\% \pm 127 \text{ mg}\%$.

2. Versuche, die Wasserstoffionenkonzentrationen zur Zitronensäure in Beziehung zu setzen, scheiterten, da sich bei Anlegung strenger statistischer Massstäbe keine Abhängigkeiten nachweisen liessen. Von einem biologisch wirksamen Zitratpuffersystem kann daher nicht gesprochen werden.
3. Es lässt sich zeigen, dass es zu einer statistisch gesicherten Abnahme der Ejakulatvolumina sowie der Zitronensäurekonzentrationen im Alter kommt.
4. Die Zitronensäure hat keinen Einfluss auf die Spermienmorphologie.
5. Der Versuch, die Zitratwerte in Beziehung zur Motilität zu bringen, scheiterte an der grossen Streuung der Zitronensäurewerte.
6. Der heute allgemein vermutete Einfluss der Zitronensäurekonzentration auf die Beschleunigung der Wiederverflüssigung des Samens konnte nicht bewiesen werden.
7. Auch der Versuch eine Korrelation zum anderen biochemischen Parameter, der Fruktose, aufzuzeigen, scheiterte an der grossen Streuung der gefundenen Werte.

Die Ursachen sind nicht allein in den anatomischen Besonderheiten der Prostata und der Bläschendrüsen zu sehen, sondern werden anhand von Doppeluntersuchungen von Ejakulaten innerhalb extrem kurzer Karenzen als Ausdruck unterschiedlicher Funktionstüchtigkeit der beiden akzessorischen Geschlechtsdrüsen gedeutet.

Es wird am Indikator Zitronensäure nachgewiesen, dass in kleinen Ejakulatvolumen (Parvisemien) der Prostatasekret- und in grossen Ejakulatvolumen (Multisemien) der Bläschendrüsens-Anteil prävaliert.

Ausserdem wird gezeigt, dass sich die Prostata in kurz aufeinanderfolgenden Ejakulationen sekretorisch schnell erschöpft und die Bläschendrüsens entweder durch unvollständige Entleerung oder durch schnelle Sekretproduktion den bedeutendsten Mengenteil am Ejakulatvolumen stellen.

Hieraus wird die hohe Streuung der gefundenen Zitronensäurewerte verständlich und die Unbrauchbarkeit eines "Zitronensäuretestes" für die praktische Spermatologie erklärlich.

8. Kleine Auswurfmenge mit hohen Zitronensäurekonzentrationen erwecken den Verdacht auf eine Erkrankung der männlichen Adnexe, speziell der Bläschendrüsens.

Literatur:

1. BARRON, E., S. GUZMAN and C. HUGGINS:
The metabolism of the prostate:
Transamination and citric acid.
J.Urol. (Baltimore) 55, 385 (1946 a)
2. BERG, O. C., C. HUGGINS and C. V. HODGES:
Concentration of ascorbic acid and phosphatates in
secretions of male genital tract.
Amer.J.Physiol. 133, 82 (1941)
3. BELONOSCHKIN, B.:
Zeugung beim Menschen.
Sjöbergsförlag Stockholm (1949)
4. BEYER, H.:
Lehrbuch der organischen Chemie.
S. Hirzel Verlag Leipzig (1963)
5. BREHM, G., H. GROPPER und G. W. KORTING:
Vergleichende Untersuchungen über den Fruktose- und
Brenztraubensäuregehalt im menschlichen Sperma.
Arch.klin.exp.Derm. 202, 180 (1956)
6. BROESIKE, G.:
Über die Entleerung und Beschaffenheit der menschli-
chen Samenflüssigkeit.
Arch.f.mikrosk.Anatomie 78 II, 128 (1911)
7. DITTMER, D. S.:
Blood and other body fluids.
Biological Handbooks, Federation of American Societies
for Experimental Biology S. 425, Washington (1961)

8. DISSELHORST: Zit. bei BROESIKE, G.:
Über die Entleerung und Beschaffenheit der menschlichen Samenflüssigkeit.
Arch.f.mikrosk.Anatomie 78 II, 128 (1911)
9. DUBINTSCHIK, J.: Zit. bei SCHERSTÉN, B.:
Der Citratgehalt der Geschlechtsdrüsensekrete.
Die Bedeutung des Citrats für die Physiologie der Spermien.
Scand.Arch.Physiol. (Berlin und Leipzig) Suppl. 9, 75 (1936)
10. EIBL, K.:
Lehrbuch der Rinderbesamung.
Verlag Paul Parey in Berlin und Hamburg (1959)
11. ELLIS: Zit. bei METTENLEITER, M.:
Sperma und künstliche Befruchtung bei Mensch und Tier.
Arch.Gynäk. 126, 251 (1925).
12. FARRIS, E. J.:
An improved method of semen analysis.
J.Urol. (Baltimore) 61, 1099 (1949)
13. FICKENTSCHER, R.:
Diagnostik und Therapie von Fertilitätsstörungen.
Münch.med.Wschr. 100, 213 (1958)
14. FINGER: Zit. bei METTENLEITER, M.:
Sperma und künstliche Befruchtung bei Mensch und Tier.
Arch.Gynäk. 126, 251 (1925)

15. FÜRBRINGER, H.:
Über Prostatafunktion und ihre Beziehung zur Potentia
generandi der Männer.
Berl.klin.Wschr. 477 (1886)
16. GAHLEN, W. und H. WÜST:
Über den Aussagewert spermilogischer Befunde.
Arch.klin.exp.Derm. 211, 176 (1960)
17. GOLDBLATT, M. W.:
Constituents of human seminal plasma.
Biochem.J. 29, 1346 (1935 a)
18. GROPPER, H. und W. NIKOLOWSKI:
Ejakulat-Fruktose und Fertilitätsdiagnostik.
DMW 1926 (1954)
19. GUTMAN, A. B. and E. B. GUTMAN:
"Acid" phosphatase and functional activity of the
prostate (man) and praeputial glands (rat).
Proceedings of the Society for Experimental Biology
and Medicine. Vol. 39, 529 (1938)
20. HAMBURGER, Ch.: Zit bei KIMMIG, J., O. STEENO und
C. SCHIRREN:
Ergebnisse der modernen biochemischen Forschungen
auf dem Gebiet der Andrologie.
Internist 8, 25 (1967)
21. HAMMEN, R.:
Studies on impaired fertility in man with special
reference to the male.
Acta obstet.et gynec.scand. 24, Suppl. 3 (1944)

22. HAMMERSTEN, Ø.:
Lehrbuch der Phys. Chemie.
10. Aufl. Verlag J. F. Bergmann Wiesbaden (1923)
23. HAMILTON and HAMILTON: Zit. bei KIMMIG, J., O.
STEENO und C. SCHIRREN:
Ergebnisse der modernen biochemischen Forschungen
auf dem Gebiet der Andrologie.
Internist 8, 25 (1967)
24. HARVEY, C.:
Semen analysis in relation to conception and
miscarriage.
Report of Conference on Infertility (1948)
25. HARVEY, C.:
A fertility index derived from semen analyses.
J.clin.Path. 6, 323 (1953)
26. HARVEY, C.:
The use of partitioned ejaculates in investigating
the role of accessory secretions in human semen.
Studies on Fertility.
Being Volume VIII of the Proceedings of the Society.
Blackwell Scientific Publications Oxford (1957)
27. HASELOFF, O. W. und H. J. HOFFMANN:
Kleines Lehrbuch der Statistik.
Walter de Gruyter Verlag Berlin (1965)

28. HEINKE, E. und R. DOEPFNER:
 Fertilitätsstörung beim Manne.
 Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten
 J. JADASSOHN Ergänzungswerk Bd. VI/3
 Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1960)

29. HIROKAWA, W.:
 Über den Einfluss des Prostatasekretes und der
 Samenflüssigkeit auf die Vitalität der Spermato-
 zoen.
 Biochem.Z. 19, 290 (1909)

30. HUGGINS, C. W., W. SCOTT and J. H. HEINEN:
 Chemical composition of human semen of the secretions
 of the prostate and seminal vesicles.
 Amer.J.Physiol. 136, 467 (1942)

31. HUGGINS, C.:
 The physiology of the prostate gland.
 Physiol.Rev. 25, 281 (1945)

32. HUGGINS, C. and A. A. JOHNSON:
 Chemical observations on fluids of the seminal tracts
 in organic phosphorus, calcium non protein nitrogen
 and glucose content of semen and seminal vesicle
 prostate and spermatocele fluids in man.
 Amer.J.Physiol. 103, 574 (1953)

33. HUGGINS, C. and W. NEAL:
 Coagulation and liquefaction of semen.
 Proteolytic enzymes and citrate in prostatic fluid.
 J.exp.Med. 76, 527 (1942)

34. HUMPHREY, G. F. and T. MANN:
Citric acid in semen.
Nature, Vol. 161, 352 (1948)
35. HUMPHREY, G. F. and T. MANN:
Studies on the metabolism of semen.
5. Citric acid in semen.
Biochem.J. 44, 97 (1949)
36. IWANOFF, E. E.:
De la fécondation artificielle chez les mammifères.
Arch.Sciences biol. Paris 12, 377 (1907)
37. JOËL, Ch. A.:
Studien am menschlichen Sperma.
Ein Beitrag zur Diagnostik männlicher Befruchtungsfähigkeit.
Benno Schwabe & Co. Verlag Basel (1953)
38. JORDAN, P. und W. SEIPP:
Fortschritte der praktischen Dermatologie.
Bd. II Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg
(1955)
39. JUNKMANN, K.:
in Physiologische Chemie von FLASCHENTRÄGER und
LEHNARTZ, Bd. II/2b, S. 563
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1954)
40. KADEN, R.:
Ätiologische Faktoren bei Fertilitätsstörungen.
Z.schr.Haut-Geschl.-Krk. 43, 537 (1968)

41. KADEN, R.:
Persönliche unveröffentlichte Mitteilung über das
Verhältnis der Fruktose-Zitronensäurekonzentrationen im Spermaplasma (1969)
42. KIESSLING, W.:
Die klinische Bedeutung der Biochemie des Spermaplasma.
Arch.klin.exp.Derm. 213, 727 (1961)
43. KIMMIG, J.:
Die Biochemie des menschlichen Spermas.
In: Zentrale Steuerung der Sexualfunktionen.
Die Keimdrüsen des Mannes.
I. Symposium der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie.
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 171 (1955)
44. KIMMIG, J. und C. SCHIRREN:
Die Untersuchung der Sekrete von Prostata, Bläschen-
drüsen und Nebenhoden sowie die Bestimmung der Steroidhormone und des Gonadotropin im Urin.
Handb.Urol. Bd. III
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1960)
45. KIMMIG, J., O. STEENO und C. SCHIRREN:
Ergebnisse der modernen biochemischen Forschungen auf dem Gebiet der Andrologie.
Internist 8, 25 (1967)
46. KIRK, J. E.:
Hypogonadism in middleaged and elderly men.
Postgard.Med. 20, 324 (1956)

47. v. KÖLLIKER:
Handbuch der Gewebelehre.
Bd. III, 6. Auflage Wien (1902)
48. KÖNIG, K. J.:
Spermatologische Veränderungen bei ungewöhnlich
kurzer sexueller Karenz.
In: Studien über die Sterilität.
1^o Congresso sulla sterilità e fertilità. Maggio 1967
S. 234. Editato a cura della clinica ostetrica e gineco-
logica dell'università di Genova.
49. LAMPE, E. H. and W. H. MASTERS:
Effect of frequent ejaculation.
Fertility and sterility.
Vol. 7, 123 (1956)
50. v. LANZ, T.:
Die reelle Acidität in den einzelnen Abschnitten des
männlichen Genitalapparates der Ratte und ihre hormo-
nale Bedingtheit.
Pflügers Archiv 222, 181 (1929)
51. LARDY, H. A. and P. H. PHILLIPS:
Studies of fat and carbohydrate oxidation in mammalian
spermatozoa.
Arch. Biochem. 6, 53 (1945)
52. LUTWAK-MANN, C. and T. MANN:
Restoration of secretory function in male accessory
glands of vitamin B - deficient rats by means of
chorionic gonadotrophin.
Nature 165, 556 (1950)

53. Mac LEOD, J. and R. Z. GOLD:
The male factor in fertility and infertility.
VIII. A study of variation in semen quality.
Fertility and Sterility Vol. 7, 387 (1956)
54. MANN, T. and U. PARSONS:
Effect of testicular hormone on the formation of
seminal fructose.
Nature 160, 294 (1947)
55. MANN, T. and U. PARSONS:
Studies on the metabolism of semen.
6. Role of hormones, effect of castration, hypo-
physectomy and diabetes, relation between blood
glucose and seminal fructose.
Biochem.J. 46, 440 (1950)
56. MANN, T.:
The biochemistry of semen.
Chapter IX. Citric acid and inositol.
Methuen & Co. Ltd. London 183 (1954)
57. MANTEGAZZA: Zit. in METTENLEITER, M.:
Sperma und künstliche Befruchtung bei Mensch und
Tier.
Arch.Gynäk. 126, 251 (1925)
58. MAUSS, J.:
Zu welchem Zeitpunkt nach der Ejakulation kann in
der Praxis die Motilität der Spermien bestimmt
werden?
Z.schr.Haut-Geschl.-Krkh. 44, 867 (1969)

59. Mc CARTHY, J. F., C. TRAVERS STEPITA, M. B.
JOHNSTON and J. A. KILLIAN:
Biochemical studies of prostato-vesicular secretions.
J.Urol., 19, 43 (1928)
60. Mc CULLAGH, E. P. and C. A. SCHAFFENBURG:
Testicular androgen deficiency and semen volume.
J.Amer.Med.Ass. 149, 1214 (1952)
61. MELAMPY, R. M., P. G. HOMEYER and J. C. PORTER:
Fructose and volume relationship of bovine semen.
Endocrinology 49, 596 (1951)
62. METTENLEITER, M.:
Sperma und künstliche Befruchtung bei Mensch und Tier.
Arch.Gynäk. 126, 251 (1925)
63. MOENCH, G. L.:
Männliche Fruchtbarkeit.
In SEITZ-AMREICH: Biologie und Pathologie des Weibes.
Bd. III, S. 307
Urban & Schwarzenberg München (1955)
64. MOLNAR, J.:
Allgemeine Spermatologie.
Verlag der Ungar. Akademie der Wissenschaften
Budapest (1963)
65. MONLIN: Zit. in METTENLEITER, M.:
Sperma und künstliche Befruchtung bei Mensch und Tier.
Arch.Gynäk. 126, 251 (1925)

66. MUSCHAT, M.:
The chemical reaction of the prostatic secretion
and semen.
J.Urol. XV, 593 (1926)
67. NIERMANN, H.:
Bestimmung der Citronensäure bei Männern mit Fertili-
tätsstörungen.
Arch.klin.exp.Derm. 213, 744 (1961)
68. NIKOLOWSKI, W.:
Beziehungen und Abhängigkeiten von Spermiogenese
und Prostatasekretion.
Derm.Wschr. 237 (1949)
69. NIKOLOWSKI, W.:
Die Zeugungsfähigkeit des Mannes und ihre Störung.
Dermat.Vener. Bd. I/2
Thieme Verlag Stuttgart (1962)
70. NOWAKOWSKI, H.:
Zentralsteuerung der Sexualfunktionen.
Die Keimdrüsen des Mannes.
1. Symposium der Deutschen Gesellschaft für Endokri-
nologie.
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1955)
71. NOWAKOWSKI, H. und C. SCHIRREN:
Spermaplasmafructose und Leydigzellfunktion beim
Manne.
Klin.Wschr. 34, 19 (1956)

72. OETTL, A. G.:
Morphologic changes in normal human semen after
ejaculation.
Fertil.and Steril. 5, 227 (1954)
73. SCHERSTÉN, B.:
Der Citratgehalt der Geschlechtsdrüsensekrete.
Die Bedeutung des Citrats für die Physiologie
der Spermien.
Scand.Arch.Physiol. (Berlin und Leipzig) Suppl. 9, 75
(1936)
74. SCHIRREN, C.:
Inosit und Citronensäure im Spermaplasma.
Arch.klin.exp.Derm. 213, 740 (1961)
75. SCHIRREN, C.:
Fertilitätsstörungen des Mannes.
Diagnostik, Biochemie des Spermaplasmas. Hormontherapie.
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (1961)
76. SCHIRREN, C., O. STEENO, A. STANEK und G. GRESSLER:
Biochemische Untersuchungen am menschlichen Sperma-
plasma.
Arch.klin.exp.Derm. 223, 80 (1965)
77. SCHIRREN, C.:
Therapeutische Probleme der Fertilitätsstörungen des
Mannes.
Z.Urol. 58, 541 (1965)

78. SCHIRREN, C.:
Die Behandlung der postpuberalen Leydigzellinsuffizienz mit Mesterolone.
Arzneimittelforsch. 16, 463 (1966)
79. SCHIRREN, C.:
Klinik der Andrologie.
Internist 8, 2 (1967)
80. SCHIRREN, C.:
Hormontherapie von Fertilitätsstörungen des Mannes einschliesslich des Hodenhochstandes.
Therapiew. 18, 77 (1968)
81. SCHLENK, W. und H. KAHMANN:
Die chemische Zusammensetzung des Spermaliquors und ihre physiologische Bedeutung.
Untersuchung am Forellensperma.
Biochem.Z. 295, 283 (1938)
82. SLOWTZOW, B.:
Zur Chemie des menschlichen Spermas.
HOPPE-SEYLER'S Z. 35, 358 (1902)
83. THUNBERG, T.:
Bestimmung von Zitronensäure nach der THUNBERG-Methode.
Abderhaldens Handb.biol.Arbeitsmeth.Abt.IV, Teil 2, 2017 (1933 c)
84. TILLINGER, K. G.: Zit in KIMMIG, J., O. STEENO und C. SCHIRREN:
Ergebnisse der modernen biochemischen Forschungen auf dem Gebiet der Andrologie.
Internist 8, 25 (1967)

85. TONUTTI, E., O. WELLER, E. SCHUCHARDT und
E. HEINKE:
Die männliche Keimdrüse.
Thieme Verlag Stuttgart (1960)
86. UTZMANN; Zit. in METTENLEITER, M.:
Sperma und künstliche Befruchtung bei Mensch und Tier.
Arch.Gynäk. 126, 251 (1925)
87. VELTMAN, G.:
Diagnostik männlicher Fertilitätestörungen.
DMW 1889 (1970)
88. Wissenschaftliche Tabellen.
Dokumenta Geigy. 7. Auflage (1968)

Lebenslauf

Am 8. Juni 1939 in Wolfen Kreis Bitterfeld geboren, die Volksschule in Holzweißig und Muldenstein/Kreis Bitterfeld, dann die Oberschule in Bitterfeld besucht und dort Juni 1955 das Abitur abgelegt. Studium der Medizin an der Humboldt-Universität in Ost-Berlin bis zum bestandenen Physikum, dann an der Freien Universität in West-Berlin bis zum Staatsexamen im Oktober 1961. Nach Aufenthalt in West-Afrika Beginn der Medizinal-Assistentenzeit April 1962 im Städtischen Rudolf-Virchow-Krankenhaus Berlin, Bestallung zum Arzt April 1964, Facharztanerkennung als Hautarzt September 1969. Zur Zeit an der Hautklinik der Freien Universität Berlin im Städtischen Rudolf-Virchow-Krankenhaus tätig.

